

50351526

BREVET D'INVENTION

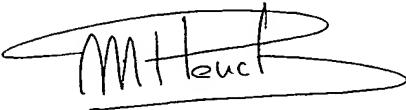
CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **13 JUIN 2000**

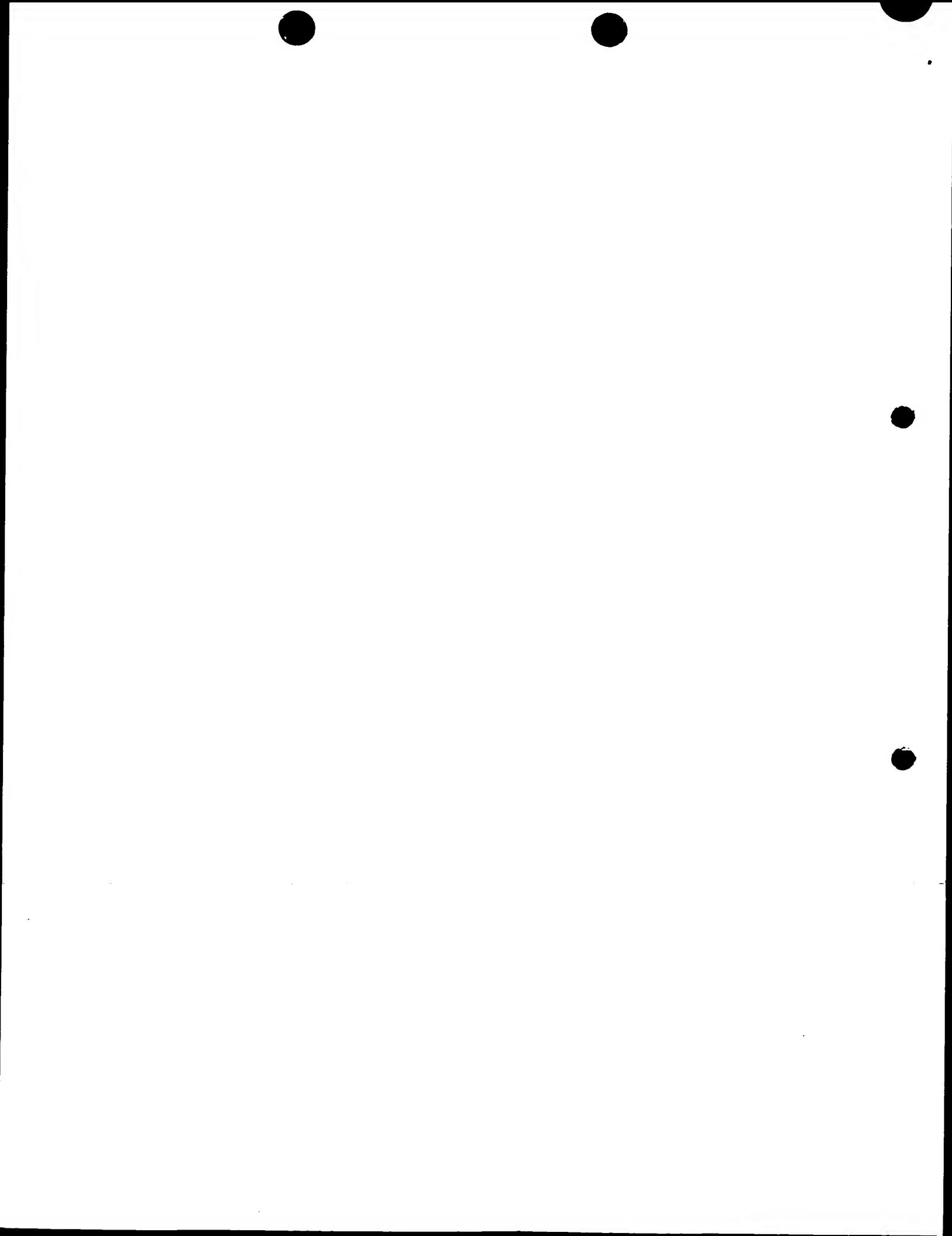
Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets



Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ
PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

SIEGE
INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIETE
INDUSTRIELLE
26 bis, rue de Saint Petersbourg
75800 PARIS Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04
Télécopie : 01 42 93 59 30



REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

• 26 bis, rue de Saint Pétersbourg
 75800 Paris Cedex 08
 Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Confirmation d'un dépôt par télécopie

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES

10 JUIN 1999

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

9907337

DÉPARTEMENT DE DÉPÔT

31 INPI TOULOUSE

DATE DE DÉPÔT

10 JUIN 1999

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

brevet d'invention demande divisionnaire



certificat d'utilité transformation d'une demande de brevet européen

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
 À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

Cabinet BARRE LAFORGUE & Associés
 95, rue des Amidonniers
 31000 TOULOUSE

n°du pouvoir permanent références du correspondant téléphone

BI1329-BF8130K3 05 61 21 08 67

date

Établissement du rapport de recherche

différé immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance

oui non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

BIOCAPTEUR ELECTROCHIMIQUE ET PASTILLE POUR UN TEL BIOCAPTEUR.

3 DEMANDEUR (S) n° SIREN 4 0 4 0 6 3 9 4 3

code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

Forme juridique

BIOTRADE

Société à responsabilité limitée

Nationalité (s) **Française**

Adresse (s) complète (s)

Pays

Centre d'Innovation Industrielle
 42, avenue du Général Decroute
 31100 TOULOUSE

FRANCE

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs

oui

non

Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES

requise pour la 1ère fois

requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission

6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 DIVISIONS antérieures à la présente demande

CABINET

date

n°

date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

BARRE LAFORGUE
 (nom et qualité du signataire)
& associés

SIGNATURE DU PRÉPOSE À LA RECEPTION

SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI

Le Mandataire

PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE EN FRANCE ET A L'ETRANGER
 95, rue des amidonniers 31000 TOULOUSE

Christiane APSSIAILLE CPI N°92.15

DEPARTEMENT DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR
(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

9907337

TITRE DE L'INVENTION :

BIOCAPTEUR ELECTROCHIMIQUE ET PASTILLE POUR UN TEL BIOCAPTEUR.

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

Cabinet BARRE LAFORGUE & Associés
95, rue des Amidonniers
31000 TOULOUSE

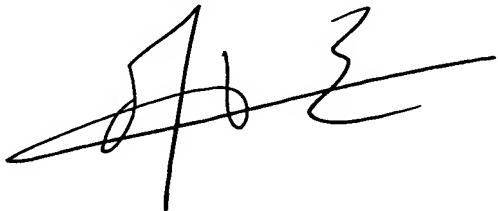
DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

GRASA Jean-Pierre
12, rue Emile Zola
78280 GUYANCOURT

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

Le 10 juin 1999



1

BIOCAPTEUR ELECTROCHIMIQUE ET PASTILLE POUR UN TEL

BIOCAPTEUR

L'invention concerne un biocapteur électrochimique de mesure de la concentration d'un composé dans une dose échantillon d'une composition liquide.

Le principe et l'intérêt des biocapteurs sont connus depuis longtemps (cf. par exemple la publication "BIOCAPTEURS : REVE OU REALITE INDUSTRIELLE ?", Maurice Comtat et Alain Bergel, BIOFUTUR 10 171, octobre 1997 p 33). Néanmoins, leurs applications pratiques restent limitées compte tenu de leur difficulté de mise en œuvre.

En particulier le problème se pose du dosage, de la mise en place et du renouvellement de la composition biochimique réactive, notamment formée d'une enzyme telle que la glucose oxydase, spécifique du composé dont 15 on veut mesurer la concentration.

Dans les appareils connus tels que ceux commercialisés par INCELTECH FRANCE (Toulouse, France) sous la dénomination MICROZYM-L ®, le biocapteur comprend une colonne dont l'âme forme une première électrode débouchant, à l'extrémité de la colonne dans une chambre de réactif 20 creuse dans laquelle une quantité de solution réactive enzymatique est versée par le manipulateur. La chambre est ensuite refermée par une membrane semi-perméable coiffant l'extrémité de la colonne et maintenue pas un joint torique.

Une deuxième électrode entoure la colonne à distance du joint torique. La composition liquide est versée sur la membrane, l'extrémité de la 25 colonne étant placée vers le haut. Le contact électrique est établi entre les deux électrodes via la solution réactive et la composition liquide échantillon qui s'écoule entre la membrane et la deuxième électrode.

Dans ces appareils, le changement de la solution réactive est long (plus de 10 minutes de manipulations) et délicat. De surcroît, les 30 manipulations requises, relativement précises, sont possibles en laboratoire mais ne peuvent pas être envisagées dans un environnement hors laboratoires (industriel, agricole).

En outre, ces appareils ne permettent pas la mesure de la concentration de différents composés, sauf à être équipés de plusieurs biocapteurs, un pour chaque composé à mesurer. Mais, dans tous les cas, la mise en œuvre d'un biocapteur pour chaque composé est longue et délicate.

5

Une autre conséquence de cette difficulté de mise en place est le fait que la qualité de la manipulation peut influencer la reproductibilité et la fiabilité des mesures effectuées.

10

15

Une des solutions envisagées pour pallier ces problèmes consiste à immobiliser la solution réactive enzymatique sur une électrode ou sur la membrane semi-perméable. Néanmoins, les techniques d'immobilisation sont très difficiles à mettre en œuvre. Parmi celles-ci, on peut citer : l'adsorption de l'enzyme sur un support de type colladion, collagène, cellulose, carbone, gel de silice ; l'inclusion de l'enzyme dans un gel ou une pâte carbonée ou une encre carbonée ; la fixation par liaison covalente de l'enzyme sur un support préalablement activé.

Toutes les solutions envisagées s'avèrent être complexes et coûteuses à la fabrication et à l'utilisation.

20

Par ailleurs, il est à noter que le coût important des solutions réactives (classiquement de l'ordre de 80 FF pour une dose de 4 µl de glucose oxydase) impose de pouvoir conserver la même solution tant qu'elle n'est pas dégradée. Or, les solutions biochimiques réactives -notamment enzymatiques- sont relativement fragiles et instables.

25

L'invention vise donc à pallier l'ensemble de ces inconvénients en proposant un biocapteur électrochimique dans lequel la mise en place de la solution réactive est extrêmement simple et rapide.

L'invention vise aussi à proposer un biocapteur permettant un changement rapide de solution réactive, par exemple pour la mesure de la concentration de différents composés successivement.

30

L'invention vise aussi à proposer un biocapteur fournissant des résultats fiables, y compris dans des environnements hors laboratoires (industrie, agriculture ...).

L'invention vise de surcroît à proposer un tel biocapteur qui soit de coût réduit tant à la fabrication qu'à l'utilisation.

L'invention vise ainsi à proposer un biocapteur permettant de satisfaire de nombreuses applications dans lesquelles les appareils connus ne peuvent pas être exploités en raison de la nature ou du nombre des composés dont la concentration peut être mesurée et/ou du défaut de fiabilité des résultats et/ou des problèmes d'utilisation et de mise en œuvre et/ou d'un coût trop élevé de ces appareils connus.

Pour ce faire, l'invention concerne un biocapteur électrochimique de mesure de la concentration d'un composé dans une dose d'une composition liquide, ce biocapteur comprenant :

- une première électrode,
- une chambre de réactif adaptée pour renfermer une quantité de solution biochimique liquide, dite solution réactive, et la placer au contact de la première électrode, et comportant une membrane semi-perméable refermant la chambre de réactif de façon à y retenir la solution réactive, cette membrane semi-perméable présentant une face externe libre, dite face de réception, apte à recevoir une dose de composition liquide séparée de la solution réactive par la membrane semi-perméable,
- une deuxième électrode disposée à distance de la membrane semi-perméable de façon à venir en contact avec la dose de composition liquide placée contre la membrane semi-perméable, caractérisé en ce qu'il comporte deux pièces distinctes :
 - une pastille comprenant la première électrode, la chambre de réactif renfermant la solution réactive liquide et la membrane semi-perméable,
 - un bâti comprenant des moyens de réception d'une pastille, des moyens de connexion électrique, avec un circuit électrique extérieur, de la première électrode d'une pastille en place dans les moyens de réception, ce bâti portant la deuxième électrode à distance de la membrane semi-perméable d'une pastille en place dans les moyens de réception, et comprenant des moyens de liaison électrique de la deuxième électrode avec le circuit électrique extérieur.

La chambre de réactif préalablement dosée en solution réactive et incorporant la première électrode étant réalisée à l'avance et formée d'une pièce distincte du bâti qui est désignée dans tout le texte de façon générale par le terme "pastille", les manipulations et la mise en œuvre du biocapteur sont 5 grandement facilitées et rapides. Le changement de solution réactive est quasiment instantané.

Avantageusement et selon l'invention, la face de réception d'une pastille en place dans les moyens de réception est orientée vers le haut et présente un angle d'inclinaison non nul par rapport à l'horizontale. Cette 10 inclinaison est adaptée pour permettre l'écoulement par gravité du surplus de composition liquide vers le bas, sans que celle-ci ne vienne directement au contact de la première électrode ou de ses moyens de connexion électrique disposés sous la pastille. Avantageusement et selon l'invention, ledit angle d'inclinaison est compris entre 10° et 45° - notamment de l'ordre de 25° -. Cette 15 inclinaison peut être obtenue par une inclinaison d'une face du bâti recevant la pastille et/ou par une forme spécifique donnée à la pastille (par exemple en forme de coin).

En outre, avantageusement et selon l'invention, le biocapteur est caractérisé en ce que la deuxième électrode s'étend au-dessus de la 20 face de réception, et en saillie vers le bas par rapport à une face du bâti orientée vers le bas, de sorte que cette deuxième électrode présente au moins une face libre s'étendant vers le bas et orientée vers l'amont par rapport à l'inclinaison de la face de réception de la pastille, et en ce qu'il comprend un puits d'alimentation en composition liquide débouchant immédiatement à l'amont et en regard de la face 25 libre de la deuxième électrode, de sorte que la composition liquide est alimentée et déposée sur cette face libre pour s'écouler vers le bas le long de la deuxième électrode jusqu'à venir dans l'interstice séparant la deuxième électrode et la face de réception inclinée.

Avantageusement et selon l'invention, la deuxième 30 électrode comprend une extrémité libre s'étendant à distance et en regard de ladite face de réception de la membrane semi-perméable d'une pastille, et cette extrémité libre présente une face inclinée s'étendant au moins sensiblement

parallèlement à la face de réception inclinée. Avantageusement et selon l'invention, la deuxième électrode présente une extrémité libre s'étendant à une distance de ladite face de réception de la membrane semi-perméable de la pastille, qui est inférieure à 5 mm.

5 Avantageusement et selon l'invention, le biocapteur est aussi caractérisé en ce que les moyens de réception d'une pastille comprennent un pan incliné orienté vers le haut (de façon à supporter une pastille placée sur ce pan incliné), et des moyens formant une butée de réception d'une pastille en position basse extrême sur le pan incliné, en ce que lesdits moyens de connexion
10 électrique comportent un plot de contact électrique débouchant du pan incliné et adapté pour venir en liaison électrique avec une portion conductrice inférieure de la pastille en place et en butée sur le pan incliné, cette portion conductrice étant elle-même en liaison électrique avec la première électrode, et en ce que le bâti comprend un étrier portant la deuxième électrode au-dessus, en regard et à
15 distance de ladite face de réception de la membrane semi-perméable d'une pastille en place et en butée sur le pan incliné. Avantageusement et selon l'invention, le biocapteur comprend des moyens pour plaquer la pastille contre le pan incliné. Avantageusement et selon l'invention, le bâti comprend un orifice de récupération de la composition liquide disposé de façon à pouvoir récupérer la
20 composition liquide s'écoulant de la face de réception – notamment ménagé en partie inférieure du pan incliné - et communiquant avec une extrémité inférieure du bâti. Avantageusement et selon l'invention, le biocapteur comprend des moyens de montage du bâti sur un récipient de récupération de la composition liquide.

25 L'invention vise aussi à proposer une pastille pour un biocapteur selon l'invention. A ce titre, l'invention vise à proposer un conditionnement fiable, de faible coût, facile à manipuler, pour une dose de solution biochimique liquide réactive – notamment une solution enzymatique – destinée à un biocapteur.

30 Pour ce faire, l'invention s'étend à une pastille de biocapteur électrochimique de mesure de la concentration d'un composé dans une dose d'une composition liquide, caractérisée en ce qu'elle comprend :

- une chambre de réactif renfermant une quantité de solution biochimique liquide, dite solution réactive, et comportant une membrane semi-perméable refermant la chambre de réactif de façon à y retenir la solution réactive, cette membrane semi-perméable présentant une face externe libre, dite 5 face de réception, apte à recevoir une dose de composition liquide séparée de la solution réactive par la membrane semi-perméable,
- une électrode, dite première électrode, placée au contact de la solution réactive contenue dans la chambre de réactif, et des moyens de connexion électrique de cette première électrode avec un circuit 10 électrique extérieur à la pastille.

L'invention concerne aussi une pastille d'un biocapteur selon l'invention. La pastille selon l'invention est simultanément un conditionnement consommable de solution réactive et un support pour la première électrode, qui peut être aussi bien une anode qu'une cathode, la 15 deuxième électrode étant alors une cathode ou, respectivement, une anode.

Avantageusement et selon l'invention, la première électrode présente une extrémité débouchant dans la chambre de réactif à l'opposé d'une portion de la membrane semi-perméable formant ladite face de réception. Avantageusement et selon l'invention, la première électrode forme un fond de la 20 chambre de réactif refermée, à l'opposé de ce fond, par la membrane semi-perméable. Avantageusement et selon l'invention, la chambre de réactif est délimitée par le fond formé par la première électrode et par la membrane semi-perméable s'étendant à partir du fond et au-dessus du fond. Avantageusement et selon l'invention, la pastille présente une gorge en creux autour du fond formé 25 par la première électrode, cette gorge étant adaptée pour recevoir un joint périphérique bloquant la membrane semi-perméable autour et au-dessus de ce fond. Avantageusement et selon l'invention, la première électrode s'étend de façon à présenter une portion débouchant à l'extérieur de la pastille pour former des moyens de connexion électrique avec un circuit électrique extérieur. 30 Avantageusement et selon l'invention, la pastille comprend un corps de matière synthétique électriquement isolante en forme générale de plaquette, et la première électrode traverse l'épaisseur de ce corps. En variante, la première

électrode peut être reliée à un fil conducteur débouchant lui-même à l'extérieur de la pastille et adapté pour pouvoir être connecté au circuit électrique extérieur.

Avantageusement et selon l'invention, la pastille est en forme générale de disque. Une pastille selon l'invention présente 5 avantageusement une épaisseur comprise entre 2 mm et 10 mm – notamment de l'ordre de 4 mm – et une dimension en longueur (ou diamètre) comprise entre 5 mm et 50 mm – notamment de l'ordre de 20 mm -. Avantageusement et selon l'invention, la première électrode présente une dimension radiale moyenne comprise entre 1 mm et 10 mm – notamment de l'ordre de 4 mm -.

10 Plus particulièrement et avantageusement, dans un biocapteur et une pastille selon l'invention, la solution réactive est une solution aqueuse enzymatique, et les électrodes sont du type à détection ampèrométrique (anode et cathode). Lorsque la solution réactive est une solution enzymatique incorporant une enzyme déshydrogénase avec un couple associé au couple 15 $\text{Fe}^{++}/\text{Fe}^{+++}$, la première électrode est une anode. L'invention s'étend néanmoins aussi à toute autre solution biochimique liquide réactive compatible avec un biocapteur de type électrochimique à deux électrodes.

20 L'invention concerne aussi un biocapteur et une pastille caractérisés en combinaison par tout ou partie des caractéristiques mentionnées ci-dessus ou ci-après.

L'invention permet une manipulation aisée du conditionnement (pastille) de la solution réactive et facilite grandement la mise en œuvre et le renouvellement des doses de solution réactive, qui sont des opérations instantanées. De surcroît, les doses de solution réactive sont protégées 25 de l'environnement extérieur et peuvent être conservées, stockées et réutilisées selon le composé dont la concentration est mesurée. L'invention peut aussi être mise en œuvre et utilisée dans des environnements quelconques sans précautions particulières (industrie, exploitation agricole, terrain de sport ou en extérieur ...) de façon simple et permet d'obtenir des résultats fiables. Elle est en outre très 30 simple et peu coûteuse à fabriquer.

D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture de la description suivante qui se réfère aux figures annexées dans lequelles :

- la figure 1 est une vue schématique en perspective d'un
5 biocapteur selon l'invention,
- la figure 2 est une vue schématique en section par un plan vertical axial médian du biocapteur de la figure 1,
- la figure 3 est une vue schématique de gauche du biocapteur de la figure 2,
- 10 - la figure 4 est une vue schématique en section selon la ligne IV-IV de la figure 2,
- la figure 5 est une vue schématique en perspective d'une pastille selon un premier mode de réalisation de l'invention,
- les figures 6a, 6b, 6c illustrent schématiquement en
15 section par un plan vertical axial médian trois étapes successives de la fabrication de la pastille de la figure 5,
- la figure 7 est une vue schématique en section par un plan vertical axial médian d'une pastille selon un deuxième mode de réalisation de l'invention,
- 20 - La figure 8 est une vue schématique en section éclatée par un plan vertical axial médian illustrant les éléments constitutifs d'une pastille selon le deuxième mode de réalisation de l'invention.

Le biocapteur 1 électrochimique selon l'invention représenté sur les figures, comprend un bâti 2 en matière synthétique
25 électriquement isolante de forme générale globalement cylindrique de révolution à axe vertical, destiné à être monté par son extrémité inférieure 3 taraudée sur une extrémité supérieure 4 filetée d'un récipient tel qu'une bouteille destinée à recueillir des doses échantillons de composition liquide après analyse dans le biocapteur 1.

30 Le biocapteur 1 comprend une zone d'analyse 5 dans laquelle les doses de composition liquide à analyser peuvent être introduites. La zone d'analyse 5 incorpore les différents dispositifs permettant de réaliser les

mesures de concentration dans la composition liquide et définit un compartiment de réception d'une pastille 6 formée d'une pièce distincte du bâti 2, et amovible par rapport au bâti 2.

Cette pastille 6 comprend une première électrode 7, une chambre de réactif 8 refermant une quantité prédéterminée de solution biochimique liquide, dite solution réactive, telle qu'une solution enzymatique, cette chambre de réactif 8 étant refermée par une membrane semi-perméable 9 de sorte que la solution réactive est retenue à l'intérieur de la chambre de réactif 8 et reste au contact de la première électrode 7.

Le compartiment de réception de la pastille 6 comprend une fente d'introduction 10 latérale ménagée dans le bâti 2, un pan incliné 11 orienté vers le haut et s'étendant à partir de la fente 10 radialement vers le bas selon un angle d'inclinaison qui est compris entre 10° et 45° - notamment de l'ordre de 25° - par rapport à l'horizontale et, à l'opposé de la fente 10 d'introduction, des moyens 12 formant une butée de réception de la pastille 6 en position basse extrême sur le pan incliné 11. Dans le mode de réalisation représenté, ces moyens 12 formant une butée sont constitués de deux montants latéraux 13 prolongeant le pan incliné 11 vers le haut de chaque côté et formant, avec une tête d'extrémité supérieure 14 du bâti 2, un étrier 15 qui vient coiffer le pan incliné 11 refermant le compartiment de réception de la pastille 6 et la zone d'analyse 5. Comme on le voit figure 4, les deux montants latéraux 13 présentent une forme adaptée pour recevoir entre eux une pastille 6 placée sur le pan incliné 11 tout en la bloquant en butée en position extrême inférieure sur le pan incliné 11.

La pastille 6 comprend un corps 16 en matière synthétique isolante de l'électricité, en forme générale de plaquette et de tronçon de cylindre de révolution de faible épaisseur, c'est-à-dire en forme générale de disque. Ce corps 16 est traversé dans son épaisseur axialement par la première électrode 7 qui est formée d'un matériau électriquement conducteur mais résistant à l'électrolyse. L'extrémité inférieure 17 de la première électrode 7 débouche à l'extérieur de la face inférieure du corps 16 de la pastille 6, et s'étend légèrement en saillie par rapport à cette face inférieure, de façon à venir en contact électrique

avec un plot de contact électrique 18 débouchant du pan incliné 11, lorsque la pastille 6 est en place, en butée 12 contre les montants latéraux 13 sur le pan incliné 11. L'extrémité supérieure 19 de la première électrode 7 forme le fond de la chambre de réactif 8 de la pastille 6. La solution réactive contenue dans cette 5 chambre de réactif 8 est donc en contact avec la première électrode 7. La membrane semi-perméable 9 retient la solution réactive au-dessus de l'extrémité supérieure 19 de la première électrode 7, qu'elle vient coiffer. Sur les figures, les échelles relatives en épaisseur ne sont pas respectées, à des fins d'illustration. Ainsi, la chambre de réactif 8 est représentée beaucoup plus épaisse qu'elle ne 10 l'est par rapport à l'épaisseur du corps 16 dans la réalité.

Un premier mode de réalisation d'une pastille 6 selon l'invention est représenté figures 2, 3, 4, 5, 6a à 6c. Dans ce premier mode de réalisation, une gorge 20 est ménagée en creux dans le corps 16 tout autour du fond 19 formé par la première électrode 7, de sorte que cette gorge 20 périphérique est apte à recevoir un joint périphérique 21 bloquant la membrane semi-perméable 9 autour et au-dessus du fond 19. Dans ce premier mode de réalisation, la chambre de réactif 8 est donc intégralement délimitée d'une part 15 par l'extrémité supérieure de la première électrode 7 formant le fond 19, et d'autre part par la membrane semi-perméable 9 qui retient la solution réactive contre ce 20 fond 19 et forme une poche la contenant, en étant bloquée par le joint périphérique 21 placé dans la gorge 20.

Comme on le voit figures 6a à 6c, pour fabriquer une telle pastille 6, on part du corps 16 dans lequel la première électrode 7 a été engagée, on dépose une quantité prédéterminée sous forme d'une goutte d'une solution 25 réactive 22 (figure 6b) sur l'extrémité supérieure 19 de la première électrode 7, puis on place la membrane semi-perméable 9 au-dessus de cette goutte 22 en la bloquant par rapport à la première électrode 7 grâce au joint 21 engagé dans la gorge 20 (figure 6c).

Les figures 7 et 8 représentent un deuxième mode de 30 réalisation de la pastille 6. Dans ce mode de réalisation, la face supérieure 41 du corps 16 de la pastille 6 est plane et vient affleurer l'extrémité supérieure 19 de la première électrode 17. Une feuille d'adhésif double face 23 percée en son centre

d'un perçage circulaire 24 de diamètre inférieur ou égal à celui de l'extrémité supérieure 19 de la première électrode 7, est collée sur le corps 16. Le perçage 24 est disposé au-dessus de l'extrémité supérieure 19 de la première électrode 7 et est centré sur cette extrémité supérieure 19. La membrane semi-perméable 9 est
5 en forme de feuille, collée elle-même par dessus la feuille d'adhésif double face 23, de sorte que la membrane semi-perméable 9 referme le perçage 24 qui définit ainsi le volume de la chambre de réactif 8 dans lequel la solution réactive est placée. Pour fabriquer cette pastille, on colle une feuille d'adhésif 23 au-dessus
10 de la membrane semi-perméable 9, puis on dépose une goutte 22 de solution réactive dans le perçage 24, puis on présente le corps 16 doté de la première électrode 7 renversé avec l'extrémité 19 et la face 41 orientées vers le bas, pour le coller sur la feuille d'adhésif 23, ce qui referme le perçage 24. Il suffit ensuite de renverser l'ensemble ainsi formé pour obtenir la pastille 6 de la figure 7. A la place d'une feuille autoadhésive 23, on peut également utiliser une feuille de
15 matière synthétique d'épaisseur prédéterminée collée sur la membrane semi-perméable 9 et sur le corps 16 par une colle appropriée, par exemple de type cyanocrylate.

Dans les deux modes de réalisation représentés, la pastille 6 présente une face externe de libre, dite face de réception 25, au moins sensiblement plane s'étendant globalement parallèlement au fond 19 formé par l'extrémité supérieure de la première électrode 7, et au corps 16, et cette face de réception 25 est adaptée pour recevoir une dose de composition liquide à analyser, cette dose de composition liquide étant séparée de la solution réactive incluse dans la chambre de réactif 8 par la membrane semi-perméable 9.
20 Néanmoins, les échanges ioniques et électroniques à travers la membrane semi-perméable 9 sont possibles, de sorte qu'une réaction d'oxydoréduction se produit, en fonction de la concentration du composé correspondant à l'agent biochimique enzymatique contenu dans la solution réactive.
25

L'étrier 15 du biocapteur porte également une deuxième électrode 26 disposée à distance de la membrane semi-perméable 9 de façon à venir en contact avec la dose de composition liquide qui est placée sur la face de réception 25 de la membrane semi-perméable 9, et ce comme représenté figure 2.

La deuxième électrode 26 est disposée au-dessus, en regard et à distance de la face de réception 25 d'une pastille 6 en place sur le pan incliné 11, et cette deuxième électrode 26 présente une extrémité libre 27 inférieure comprenant une face plane inclinée s'étendant au moins sensiblement parallèlement à la face de réception 25 qui est elle-même inclinée au moins sensiblement parallèlement au pan incliné 11, c'est-à-dire d'un angle compris entre 10° et 45° -notamment de l'ordre de 25°- par rapport à l'horizontale. La distance ménagée entre l'extrémité libre inférieure 27 de la deuxième électrode 26 et la face de réception 25 de la membrane semi-perméable 9 de la pastille 6 est adaptée pour qu'une goutte de composition liquide à analyser soit retenue par capillarité dans l'espace ménagé entre cette extrémité libre 27 et cette face de réception 25. Cette distance dépend donc en particulier du diamètre de la deuxième électrode 26 et de la face de réception 25 qui est de préférence compris entre 1 mm et 10 mm – notamment de l'ordre de 4 mm -, de la viscosité de la composition liquide à analyser, et de l'inclinaison de la face de réception 25. En pratique, avantageusement et selon l'invention, cette distance est inférieure à 5 mm, et supérieure à 1 mm.

Une pastille 6 selon l'invention a typiquement une épaisseur comprise entre 2 mm et 10 mm – notamment de l'ordre de 4 mm -, l'épaisseur de la chambre de réactif 8 étant inférieure à 1 mm, de l'ordre de quelques microns à quelques dixièmes de millimètre. La pastille 6 a avantageusement une dimension en longueur (plus grande dimension perpendiculairement à l'épaisseur, c'est-à-dire dimension radiale, ou diamètre si elle est en forme de disque) comprise entre 5 mm et 50 mm – notamment de l'ordre de 20 mm -. La face libre d'extrémité 27 de la deuxième électrode 26 et la face de réception 25 présentent une dimension moyenne parallèlement au plan de la face de réception 25 (notamment un diamètre dans les modes de réalisation où ces faces sont circulaires) comprise entre 1 mm et 10 mm – notamment de l'ordre de 5 mm -. Les électrodes 7, 26 présentent une dimension radiale moyenne (diamètre s'il s'agit de cylindres de révolution) comprise entre 1 mm et 10 mm – notamment de l'ordre de 4 mm -.

La première électrode 7 est de préférence de forme cylindrique de révolution, la face de réception 25 étant en forme générale de

disque. De même, la deuxième électrode 26 est de préférence de forme cylindrique de révolution. Rien n'empêche néanmoins de prévoir, en variantes non représentées, d'autres formes de réalisation (par exemple électrodes 7, 26 prismatiques et face de réception 25 polygonale ...). De même, le corps 16 de la 5 pastille 6 peut être non pas cylindrique, mais prismatique, ou même en forme de coin (avec deux bases non parallèles entre elles) de façon à former ou à participer à l'inclinaison de la face de réception 25 par rapport à l'horizontale (le pan incliné 11 étant moins incliné voire même non incliné).

Par ailleurs, le biocapteur 1 comprend un cavalier 28 10 métallique comprenant deux branches verticales 29 engagées dans des perçages verticaux correspondant ménagés à travers la tête 14 de l'étrier 15 de façon que les extrémités inférieures 30 de ces branches 29 viennent en appui contre le corps 16 d'une pastille 6 en place sur le pan incliné 11. Le cavalier 28 applique donc, 15 par l'effet de son poids, la pastille 6 contre le pan incliné 11, et la première électrode 7 en contact électrique avec le plot 18. Le cavalier 28 comprend une traverse supérieure 31 reliant les deux branches verticales 29, et dotée d'une extension verticale 32 de manœuvre permettant à l'utilisateur de soulever le cavalier 28 pour libérer la pastille 6. En variante non représentée, le cavalier 28 peut également être rappelé au contact de la pastille 6 par l'intermédiaire de 20 moyens de rappel à ressort. Les extrémités libres inférieures 30 des branches 29 du cavalier 28 sont de préférence biseautées de façon à s'étendre parallèlement au pan incliné 11 et au corps 16.

Le biocapteur 1 comprend en outre un orifice 33 de récupération de la composition liquide après analyse, et cet orifice 33 est ménagé 25 en partie inférieure du pan incliné 11, de sorte que la composition liquide s'écoule dans l'orifice 33 naturellement par gravité à partir de la face de réception 25, sans venir au contact de la première électrode 7 ou du plot 18 de contact. L'orifice 33 communique par l'intermédiaire d'un conduit vertical 34 avec 30 l'extrémité inférieure 3 du bâti 2, de sorte que la composition liquide peut s'écouler dans le récipient de récupération sur lequel le biocapteur 1 est monté.

Par ailleurs, l'étrier 15 du biocapteur 1 comprend un puits d'alimentation 35 en composition liquide, par lequel l'extrémité d'une pipette 36

peut être introduite pour permettre la délivrance d'une dose de composition liquide à analyser. Ce puits d'alimentation 35 débouche immédiatement à l'amont et en regard d'une face libre 43 verticale de la deuxième électrode 26, cette face libre 43 étant orientée vers l'amont par rapport à l'inclinaison de la face de réception 25 de la pastille 6, et donc par rapport au sens d'écoulement de la composition liquide sur cette face de réception 25.

La deuxième électrode 26 s'étend au-dessus et en regard de la face de réception 25. Elle est portée par l'étrier 15 du bâti 2 qui présente une face inférieure 42 libre orientée vers le bas, s'étendant au-dessus et à distance du pan incliné 11 pour former le compartiment de réception de la pastille 6. La deuxième électrode 26 s'étend en saillie vers le bas à partir de cette face inférieure 42 de l'étrier 15 de façon à présenter ladite face libre 43, contre laquelle l'extrémité 44 d'une pipette 36 engagée dans le puits d'alimentation 35 peut être placée pour y déposer une dose (goutte) de composition liquide. La goutte de composition liquide ainsi déposée s'écoule vers le bas par gravité pour venir combler l'espace entre la deuxième électrode 26 et la face de réception 25, et elle y reste maintenue par capillarité. Si un surplus de composition liquide est déposé, ce dernier va s'écouler par gravité vers le bas sur la pastille 6 inclinée, puis dans l'orifice 33 de récupération, et ce grâce à l'inclinaison de la face de réception 25 et de la pastille 6 qui est adaptée à cet effet.

Le plot de contact 18 et la deuxième électrode 26 sont reliés à un circuit électrique extérieur par un fil conducteur 37, respectivement 38, débouchant à l'extérieur du bâti 2. Chacun de ces fils 37, 38 est passé dans un conduit ménagé à travers le bâti 2 pour déboucher à l'extérieur du bâti 2. Chaque fil 37, 38 présente, à son extrémité libre extérieure, un connecteur 39, respectivement 40, pour sa connexion à un circuit électrique extérieur auquel est fourni le courant électrique correspondant à la mesure de concentration du composé chimique dans la composition liquide à analyser, notamment pour la mesure de l'intensité du courant électrique dans le cas d'électrodes 7, 26 du type ampèrométrique.

La première électrode 7 portée par une pastille 6 est reliée au fil 37 par l'intermédiaire du plot de contact 18 auquel le fil 37 est soudé. Par

contre, le fil 38 de la deuxième électrode 26 est directement soudé sur cette deuxième électrode 26.

La membrane semi-perméable 9 utilisée dans une pastille 6 de l'invention, peut être une membrane semi-perméable en cellophane telle qu'une membrane de dialyse. Les électrodes 7, 26 peuvent être réalisées entièrement en or ou en platine, ou en alliage métallique revêtu d'or ou de platine, ou en tout autre matériau électriquement conducteur résistant à l'électrolyse.

La pastille 6 est immédiatement amovible par rapport au bâti 2 par simple manœuvre manuelle sans outil. Pour enlever une pastille 6 en place dans la zone d'analyse 5, il suffit en effet de soulever le cavalier 28 en tirant vers le haut sur l'extension 32 de manœuvre, et d'extraire la pastille 6 par la fente 10 en la faisant glisser vers le haut sur le pan incliné 11. Pour mettre en place une nouvelle pastille 6, on l'introduit dans la fente 10 jusqu'à ce qu'elle vienne en butée 12 inférieure contre les montants latéraux 13, puis on relâche le cavalier 28 dont les branches 29 viennent au contact du corps 16 de la pastille 6 en la plaquant sur le pan incliné 11. La pastille 6 est ainsi automatiquement précisément placée par rapport au plot de contact 18 et par rapport à la deuxième électrode 26. On peut immédiatement injecter une goutte d'une dose de composition liquide à analyser avec une pipette 36 comme représenté figure 2.

L'invention est applicable à la réalisation d'un biocapteur utilisable dans tous les cas où il est nécessaire de confiner une solution liquide biochimique réactive dans une chambre de réactif 8 séparée d'une composition liquide à analyser, par une membrane semi-perméable 9, une électrode étant en contact avec la composition liquide à analyser, tandis que l'autre électrode est en contact avec la solution réactive. L'invention est en particulier applicable pour les mesures de la concentration d'un composé chimique dans une composition liquide aqueuse d'origine naturelle ou artificielle, avec une solution réactive enzymatique. La valeur de la concentration est obtenue par la mesure du courant circulant entre les électrodes suite à la réaction chimique enzymatique d'oxydoréduction générée dans la composition liquide par la solution réactive enzymatique. On peut ainsi notamment mesurer précisément et rapidement les concentrations en glucose ou en lactate.

L'invention néanmoins s'applique tout aussi bien à la mesure de tout autre composé chimique, et notamment pour la détection et la mesure de concentrations de différents composés dans les vins, les substances agroalimentaires, les liquides physiologiques. Ainsi, l'invention peut faire l'objet de très nombreuses applications : dosage du glucose, du lactate, de l'urée, du cholestérol, ou d'autres métabolites (hormones, anti-corps ...), d'alcools ou des drogues illicites, et ce par prélèvement d'une composition liquide, sanguine ou autre d'un organisme humain ou animal ; dosage de composés tel que les sucres, les acides aminés, le glutamate, le lactate, ... dans les produits finis ou les procédés d'élaboration des produits agroalimentaires tels que le pain, le lait, les laitages, les vins, les bières ... ; mesure de la maturité des fruits ; mesure de la fraîcheur des poissons et des viandes ; détermination de la contamination bactérienne d'un produit agroalimentaire ; dosage d'agents toxiques dans les compositions liquides industrielles ou naturelles (pesticides, fongicides, nitrates, phénols, organochlorés ou organophosphorés, liants métalliques ; mesure de la demande biologique en oxygène, détection de la contamination organique des eaux ...)...

Par ailleurs, l'invention peut faire l'objet de nombreuses variantes par rapport aux modes de réalisation décrits et représentés. En particulier, la forme, les dimensions, et le matériau constitutif du biocapteur 1 et des pastilles 6 peuvent varier dans une large mesure. Le bâti 2 peut être lui-même réalisé en une seule pièce moulée et/ou usinée, ou de préférence en plusieurs pièces moulées et/ou usinées assemblées les unes aux autres ultérieurement.

REVENDICATIONS

1/ - Biocapteur électrochimique de mesure de la concentration d'un composé dans une dose d'une composition liquide, ce 5 biocapteur comprenant :

- une première électrode (7),
- une chambre de réactif (8) adaptée pour renfermer une quantité de solution biochimique liquide, dite solution réactive, et la placer au contact de la première électrode (7), et comportant une membrane semi- 10 perméable (9) refermant la chambre de réactif (8) de façon à y retenir la solution réactive, cette membrane semi-perméable (9) présentant une face externe libre, dite face de réception (25), apte à recevoir une dose de composition liquide séparée de la solution réactive par la membrane semi-perméable (9),
 - une deuxième électrode (26) disposée à distance de la membrane semi-perméable (9) de façon à venir en contact avec la dose de composition liquide placée contre la membrane semi-perméable (9),15 caractérisé en ce qu'il comporte deux pièces distinctes :
 - une pastille (6) comprenant la première électrode (7), la chambre de réactif (8) renfermant la solution réactive liquide, et la membrane semi-perméable (9),
 - un bâti (2) comprenant des moyens (11, 12) de réception d'une pastille (6), des moyens (18, 37, 39) de connexion électrique, avec un circuit électrique extérieur, de la première électrode (7), d'une pastille (6) en place dans les moyens (11, 12) de réception, ce bâti (2) portant la deuxième 20 électrode (26) à distance de la membrane semi-perméable (9) d'une pastille (6) en place dans les moyens (11, 12) de réception, et comprenant des moyens (38, 40) de liaison électrique de la deuxième électrode (26) avec le circuit électrique extérieur.

2/ - Biocapteur selon la revendication 1, caractérisé en ce 30 que la face de réception (25) d'une pastille (6) en place dans les moyens (11, 12) de réception est orientée vers le haut et présente un angle d'inclinaison non nul par rapport à l'horizontale.

3/ - Biocapteur selon la revendication 2, caractérisé en ce que ledit angle d'inclinaison est compris entre 10° et 45° - notamment de l'ordre de 25° .

4/ - Biocapteur selon l'une des revendications 2 ou 3, caractérisé en ce que la deuxième électrode (26) s'étend au-dessus de la face de réception (25) et en saillie vers le bas par rapport à une face (42) du bâti (2) orientée vers le bas, de sorte que cette deuxième électrode (26) présente au moins une face libre (43) s'étendant vers le bas et orientée vers l'amont par rapport à l'inclinaison de la face de réception (25) de la pastille (6), et en ce qu'il comprend un puits d'alimentation (35) en composition liquide débouchant immédiatement à l'amont et en regard de la face libre (43) de la deuxième électrode (26), de sorte que la composition liquide est alimentée et déposée sur cette face libre (43) pour s'écouler vers le bas le long de la deuxième électrode (26) jusqu'à venir dans l'interstice séparant la deuxième électrode (26) et la face de réception (25) inclinée.

5/ - Biocapteur selon l'une des revendications 2 à 4, caractérisé en ce que la deuxième électrode (26) comprend une extrémité libre (27) s'étendant à distance et en regard de ladite face de réception (25) de la membrane semi-perméable (9) d'une pastille (6), et cette extrémité libre (27) présente une face inclinée s'étendant au moins sensiblement parallèlement à la face de réception (25) inclinée.

6/ - Biocapteur selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la deuxième électrode (26) présente une extrémité libre (27) s'étendant à une distance de ladite face de réception (25) de la membrane semi-perméable (9) de la pastille (6) qui est inférieure à 5 mm.

7/ - Biocapteur selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que les moyens (11, 12) de réception d'une pastille comprennent un pan incliné (11) orienté vers le haut, et des moyens (12) formant une butée de réception d'une pastille (6) en position basse extrême sur le pan incliné (11), en ce que les moyens (18, 37, 39) de connexion électrique comportent un plot (18) de contact électrique débouchant du pan incliné (11) et adapté pour venir en liaison électrique avec une portion (17) conductrice inférieure de la pastille (6) en

place et en butée sur le pan incliné (11), cette portion conductrice (17) étant en liaison électrique avec la première électrode (7), et en ce que le bâti (2) comprend un étrier (15) portant la deuxième électrode (26) au-dessus, en regard et à distance de ladite face de réception (25) de la membrane semi-perméable (9) d'une pastille (6) en place et en butée sur le pan incliné (11).

8/ - Biocapteur selon la revendication 7, caractérisé en ce qu'il comprend des moyens (28) pour plaquer la pastille (6) contre le pan incliné (11).

9/ - Biocapteur selon l'une des revendications 2 à 8, 10 caractérisé en ce que le bâti (2) comprend un orifice (33) de récupération de la composition liquide disposé de façon à pouvoir récupérer la composition liquide s'écoulant de la face de réception (25) et communiquant avec une extrémité inférieure (3) du bâti.

10/ - Biocapteur selon l'une des revendications 1 à 9, 15 caractérisé en ce qu'il comprend des moyens (3) de montage du bâti (2) sur un récipient de récupération de la composition liquide.

11/ - Pastille de biocapteur électrochimique de mesure de la concentration d'un composé dans une dose d'une composition liquide, caractérisée en ce qu'elle comprend :

20 - une chambre de réactif (8) renfermant une quantité de solution biochimique liquide, dite solution réactive, et comportant une membrane semi-perméable (9) refermant la chambre de réactif (8) de façon à y retenir la solution réactive, cette membrane semi-perméable (9) présentant une face externe libre, dite face de réception (25), apte à recevoir une dose de composition 25 liquide séparée de la solution réactive par la membrane semi-perméable (9),

- une électrode, dite première électrode (7), placée au contact de la solution réactive contenue dans la chambre de réactif (8), et des moyens (17) de connexion électrique de cette première électrode (7) avec un circuit électrique extérieur à la pastille (6).

30 12/ - Pastille selon la revendication 11, caractérisée en ce que la première électrode (7) présente une extrémité (19) débouchant dans la

chambre de réactif (8) à l'opposé d'une portion de la membrane semi-perméable (9) formant ladite face de réception (25).

5 13/- Pastille selon l'une des revendications 11 ou 12, caractérisée en ce que la première électrode (7) forme un fond (19) de la chambre de réactif (8) refermée, à l'opposé de ce fond (19), par la membrane semi-perméable (9).

10 14/- Pastille selon la revendication 13, caractérisée en ce que la chambre de réactif (8) est délimitée par le fond (19) formé par la première électrode (7) et par la membrane semi-perméable (9) s'étendant à partir du fond (19) et au-dessus du fond (19).

15 15/- Pastille selon les revendications 13 et 14, caractérisée en ce qu'elle présente une gorge (20) en creux autour du fond (19) formé par la première électrode (7), cette gorge (20) étant adaptée pour recevoir un joint périphérique (21) bloquant la membrane semi-perméable (9) autour et au-dessus de ce fond (19).

16/- Pastille selon l'une des revendications 11 à 15, caractérisée en ce que la première électrode (7) s'étend de façon à présenter une portion (17) débouchant à l'extérieur de la pastille (6) pour former des moyens (17) de connexion électrique avec un circuit électrique extérieur.

20 17/- Pastille selon l'une des revendications 11 à 16, caractérisée en ce qu'elle comprend un corps (16) de matière synthétique électriquement isolante en forme générale de plaquette, et en ce que la première électrode (7) traverse l'épaisseur de ce corps (16).

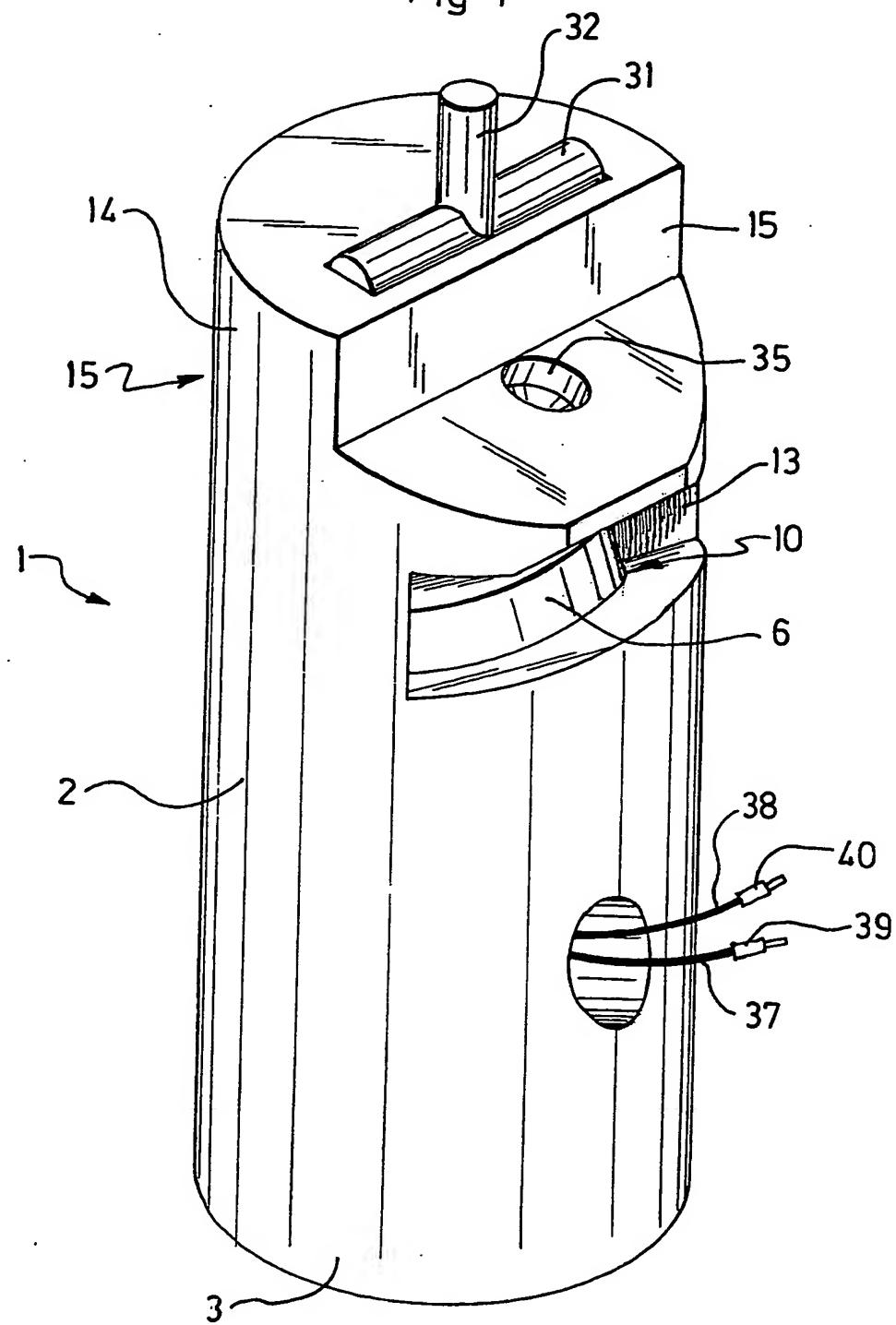
25 18/- Pastille selon l'une des revendications 11 à 17, caractérisée en ce qu'elle est en forme générale de disque.

19/- Pastille selon l'une des revendications 11 à 18, caractérisée en ce qu'elle présente une épaisseur comprise entre 2 mm et 10 mm et une dimension en longueur comprise entre 5 mm et 50 mm.

30 20/- Pastille selon l'une des revendications 11 à 19, caractérisée en ce que la première électrode (7) présente une dimension radiale moyenne comprise entre 1 mm et 10 mm – notamment de l'ordre de 4 mm -.

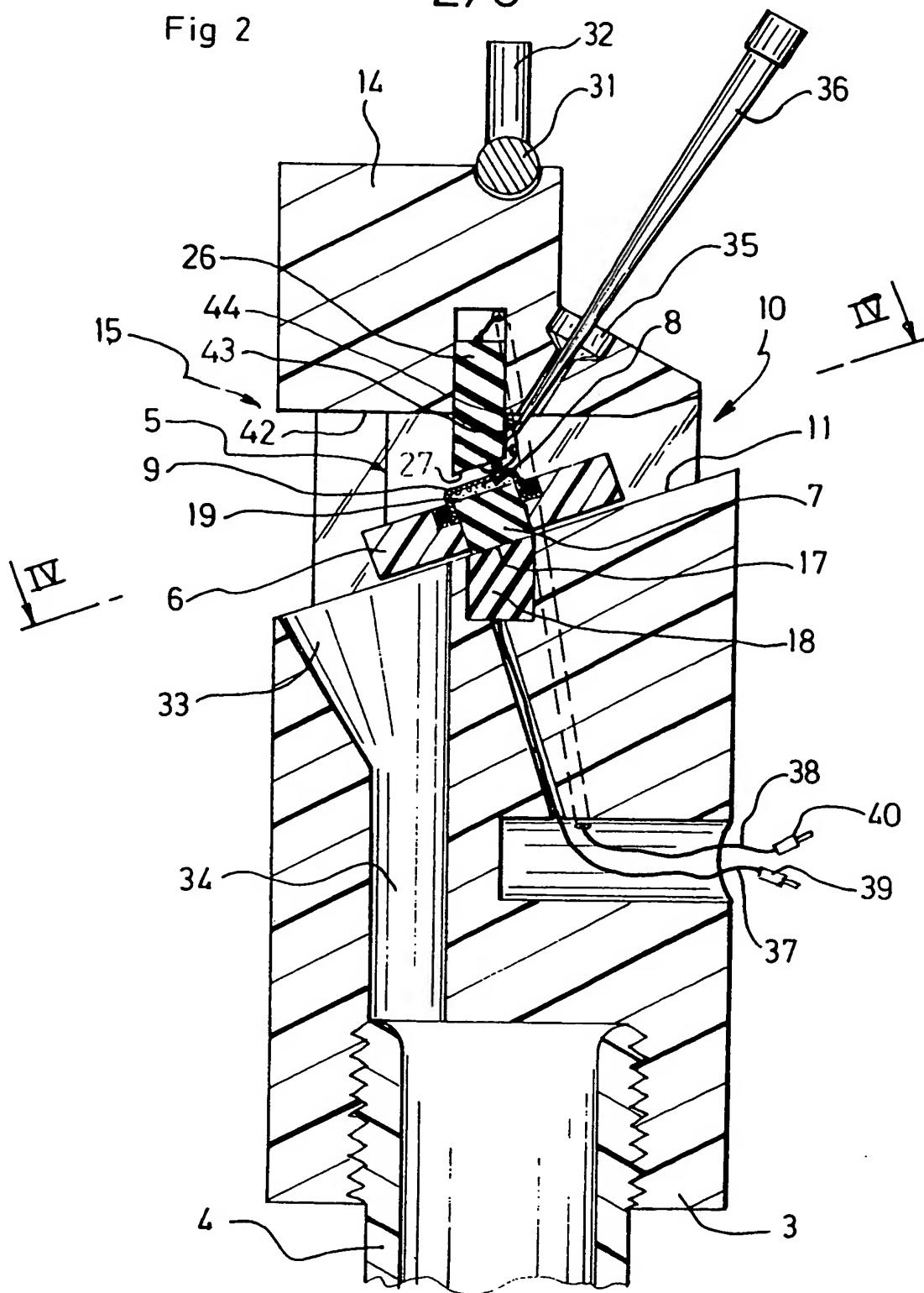
21/- Pastille selon l'une des revendications 11 à 20,
caractérisée en ce que la solution réactive est une solution aqueuse enzymatique.

Fig 1



2/6

Fig 2



3/6

Fig 3

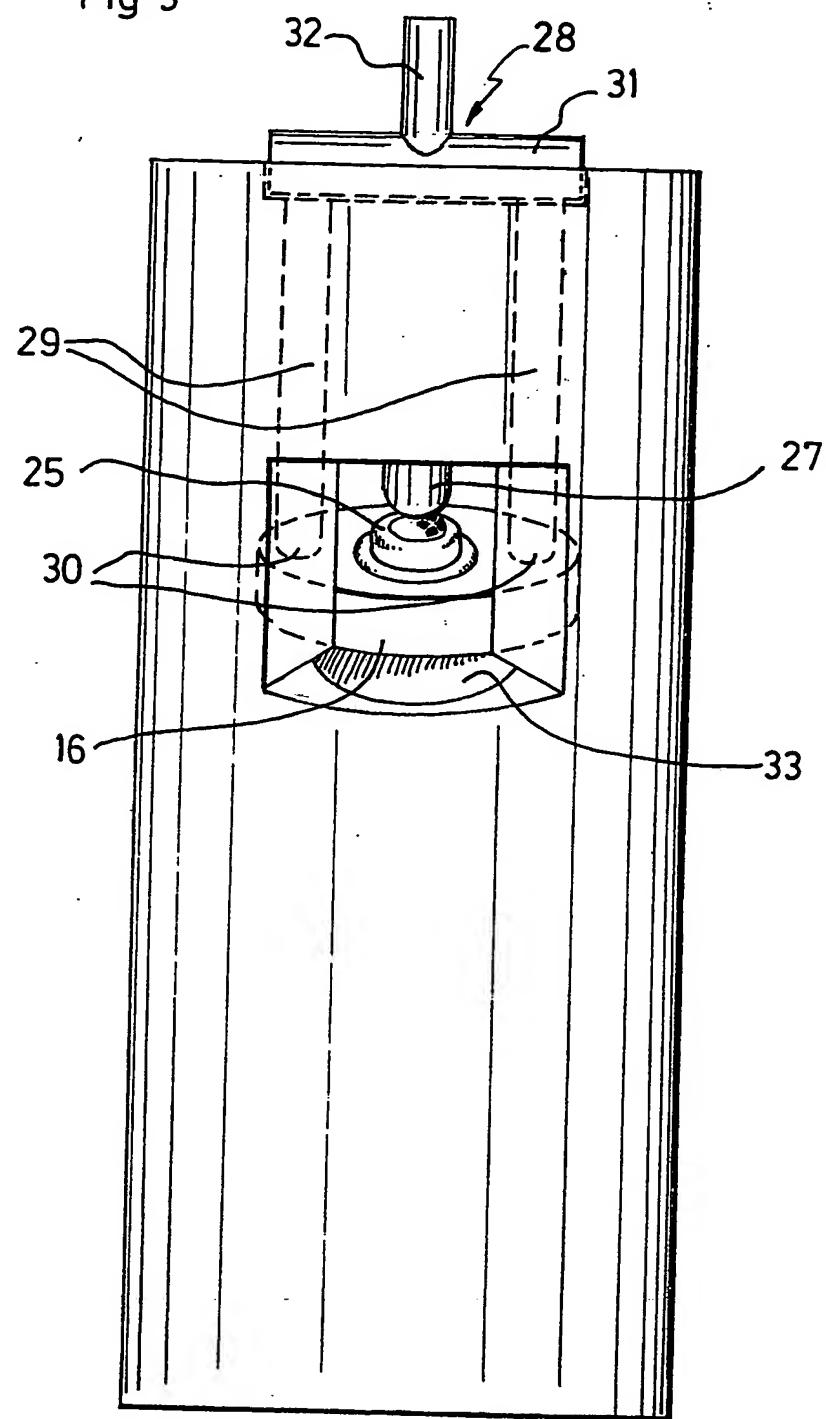


Fig 4

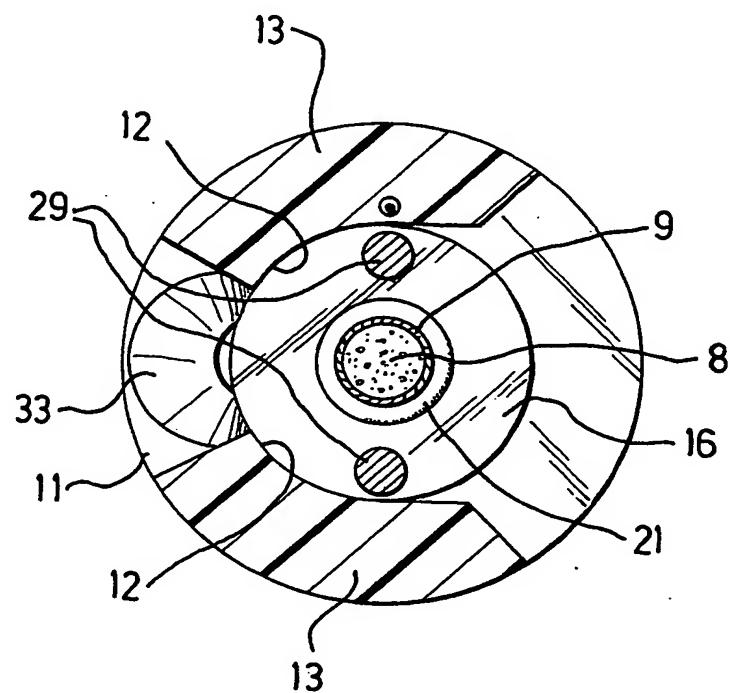


Fig 5

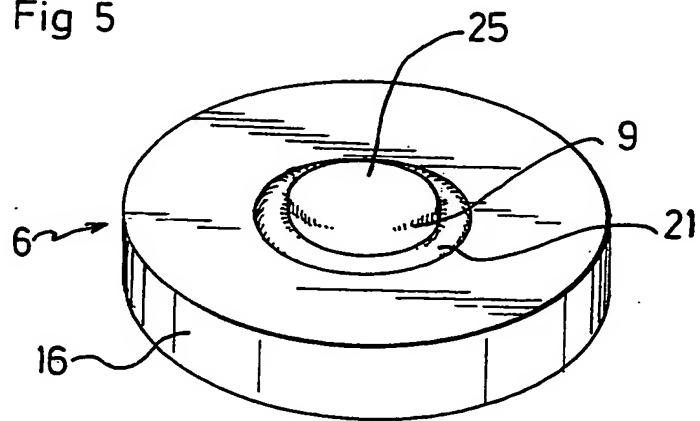


Fig 6a

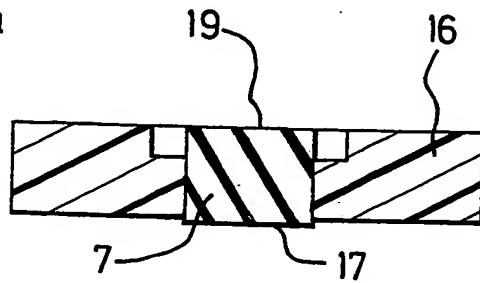


Fig 6b

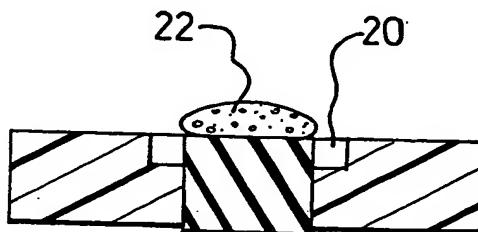
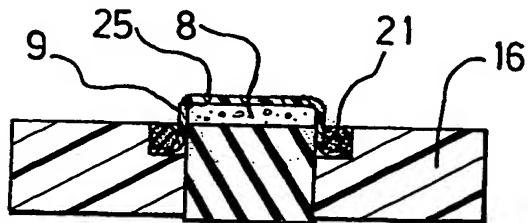


Fig 6c



6/6

Fig 7

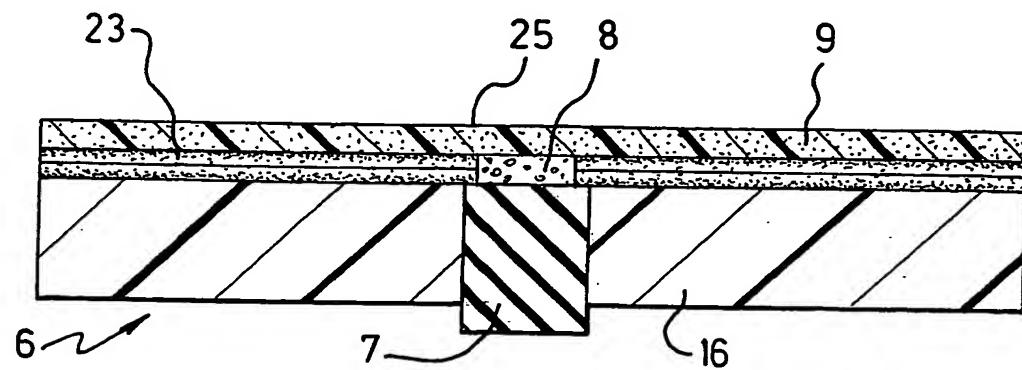


Fig 8

